

Arachidonic acidの脱着膜Prolactin産生に及ぼす影響に関する研究

特に分娩経過との関連において

木下 俊 彦

緒言

Prolactin(PRL)の測定におけるRIA系の確立に伴い、羊水中には比較的高濃度のPRLが存在することが明らかにされ⁽¹⁾、その起源に関し多大な関心が向けられた。

まず、Riddick(1978)⁽²⁾やHealy(1979)⁽³⁾らによって胎盤組織、特に脱落膜組織よりのPRL分泌を示唆する報告がなされ、その後in vitro系で脱落膜組織からのPRL分泌、あるいは免疫組織化学的に胎盤組織内にPRLを証明したという結果が多数報告され、脱落膜においてPRLが産生分泌されることは、ほぼ疑いのない事実となっている。その結果、羊水中に存在しているPRLは主として脱落膜で産生されたPRLが移行したものであることも明らかにされた^(4,5)。しかしながら、その産生調節機序については、下垂体性のPRL産生に対し影響を与えるthyroid releasing hormone(TRH)やdopamine、bromocriptineなどは脱落膜PRLの産生に対しては影響を与えないことから、脱落膜PRLの産生調節機構は下垂体とは異なり、局所的に調節されている可能性が示唆されているが、未だ明確にはされていない⁽⁶⁾。

最近、Handwergerらはprostaglandin(PG)の前駆物質であるアラキドン酸が妊娠末期の脱落膜PRL産生を抑制することを報告した⁽⁷⁾。アラキドン酸は羊水中にも比較的高濃度に存在し⁽⁸⁾、脱落膜組織においてもアラキドン酸を介し各種のPGが産生されることが知られている。さらに、アラキドン酸自体が細胞増殖⁽⁹⁾やホルモン分泌⁽¹⁰⁾にも関与していることが明らかにされており、アラキドン酸が脱落膜組織におけるPRL分泌の生理的調節因子の一つとなっている可能性がある。

そこで今回、まず妊娠初期の脱落膜を用いて、脱落膜PRL産生に対するアラキドン酸の影響を検討した。つぎに脱落膜および羊水中PRLの生理的意義を解析するために、妊娠末期で陣痛発来前と発来後の各組織におけるPRL濃度を比較して、ヒトの分娩時におけるアラキドン酸とPRLとの関係について検討を加えた。

実験材料および方法

材料

患者の同意のもとに妊娠初期(妊娠 6~10週)の人工妊娠中絶例より得たヒト脱落膜組織、および妊娠末期(妊娠36~42週)の分娩時に得た羊水ならびに脱落膜組織である。

方法

1、脱落膜組織のincubation実験

妊娠初期(30例)の脱落膜組織を娩出後直ちに絨毛膜、羊膜から分離した。4℃のPBSにて洗浄後、細切し、約0.3gをEhrlenmyer flaskに採り、諸物質を添加したMedium-199(2ml)の培養液中で37℃下(95%O₂、5%CO₂)にて6時間のincubationを行った。各incubationはtriplicateで行った。incubation後のmediumはPRL濃度測定まで-20℃で凍結保存した。incubation前後の組織は1mlのPBSを加えPotter homogenizerにて十分にhomogenizeした後、3000×gで15分遠心した上清をPRL濃度測定まで-20℃で凍結保存した。なお予備検討では、この条件下でのincubationではPRLの分解は無視し得る量と考えられた。

培養液に添加した試薬は以下のものを用いた。

arachidonic acid (Sigma社)

γ -linolenic acid (P-L Biochemical社)

linoleic acid (P-L Biochemical社)

oleic acid (Sigma社)

prostaglandin F2 α 、prostaglandin E2(フナコシ薬品)

indomethacin (Sigma社)

BW-755C (Sigma社)

各添加物はethanolにて融解し、ethanolの最終濃度は0.1%以下になるように調整した。

2、妊娠末期羊水中PRL測定および脱落膜組織中PRL測定

妊婦70例から羊水を採取した。うち10例は陣痛開始前の妊婦(妊娠37週2日～38週5日)から帝王切開時に得たものであり、他の60例(妊娠36週4日～42週1日)は陣痛開始後分娩第II期に人工破膜を施行した際に採取したものである。羊水は直ちに $1000 \times g$ で、15分間遠心し、上清をPRL測定時まで -20°C で凍結保存した。

陣痛開始前に行った帝王切開10例(妊娠37週2日～38週5日)および陣痛開始後に経膈分娩となった22例(妊娠36週4日～42週1日)から分娩後に卵膜を得た。直ちに卵膜から脱落膜(0.5g)を分離し、 4°C のPBSにて洗浄後、1mlのPBSを加えPotter homogenizerにて十分にhomogenizeした後、 $3000 \times g$ で15分遠心した上清をPRL測定まで -20°C で凍結保存した。

3、羊水中遊離脂肪酸測定

陣痛開始前の妊婦(妊娠37週6日～38週3日)5例から帝王切開時に得た羊水、および陣痛開始後の分娩第II期に人工破膜を施行した際に採取した5例(妊娠38週2日～39週5日)の羊水を用いて羊水中遊離脂肪酸を測定した。遊離脂肪酸の測定はKeires(1977)等の方法⁽¹¹⁾に準じて行った。即ち、3mlの羊水に硫酸を加え酸性とした後、 $6 \mu\text{g}$ のheptadecanoic acid(C17:0)をinternal standardとして加えた。その後hexaneで抽出し、メタノール下に -20°C で保存した。測

定に際し、diazomethaneでメチル化したものをhexaneで融解し、得た抽出物をgas chromatography(175°C、Shincrone EC-7、2m)を用いて分析した。

遊離脂肪酸濃度はheptadecanoic acidのピークとの比較にて測定した。各ピークはmas spectrometerにて同定確認した。

4、PRLの測定

PRL濃度をRIA法(2抗体法、プロラクチン キット「第一」II)を用いて測定した。PRL産生量は脱落膜組織1g当たりのincubation後の組織含量とmedium中への放出量を合計し、それより脱落膜組織1g当たりのincubation前の組織含量を減じたものとして算出した⁽²⁾。PRLのRIAのinterassay coefficient varianceとintraassay coefficient varianceは、各々7%と6%であった。

5、統計処理法

データは、mean \pm S.E.にて表示した。統計処理は、二標本t検定を用いておこなった。ただし、実験5における相関係数はスピアマン順位相関係数の検定にて求めた。

実験結果

1、妊娠初期の脱落膜(n=6)はincubation前には $4660.0 \pm 223.5 \text{ ng/g.wet.tissue}$ のPRLを含有していたが、6時間のincubation後の組織には $847.4 \pm 79.1 \text{ ng/g.wet.tissue}$ 、そしてmedium中には $7800 \pm 948.2 \text{ ng/g.wet.tissue}$ のPRLを含有していた。従って、妊娠初期の脱落膜はincubation前後のPRL総量の差をみることにより $3987.4 \pm 724.3 \text{ ng/g.wet.tissue}$ のPRLを産生したことになる(図1)。なお、同時に絨毛組織により産生されるホルモンであるhuman chorionic gonadotropin(hCG)とhuman placental lactogen(hPL)を測定したが、その存在は認められなかった。そのため今回採取した脱落膜組織に、絨毛膜組織が混在している可能性は否定できた。

つぎに、アラキドン酸の脱落膜組織のPRL産生に与える影響をみる目的で、培養液にアラキドン酸を添加して妊娠初期脱落膜組織(n=6)のincubationを行った。その結果、図2のごとくアラキドン酸の添加で $3\sim 300 \mu \text{ M}$ の範囲で用量依存的にPRLの産生は抑制され、アラキドン酸 $300 \mu \text{ M}$ にて6時間後のPRLの産生量は対照群の58%に抑制された(対照群 $2896.8 \pm 626.8 \text{ ng/g.wet.tissue}$ 、アラキドン酸($300 \mu \text{ M}$)の添加群 $1680.2 \pm 580.7 \text{ ng/g.wet.tissue}$ $P < 0.01$)。

アラキドン酸はしばしばperoxideを作り、それがさまざまな生物効果を発現することが知られている⁽¹²⁾。今回アラキドン酸製剤にperoxideが混入した可能性を否定する目的でアラキドン酸をケイ酸カラムにて純化したものの効果をみた。純化していないアラキドン酸を添加し、脱落膜組織(n=6)のincubationを行ったところ、表1に示すごとく $300 \mu \text{ M}$ の添加により6時間後の

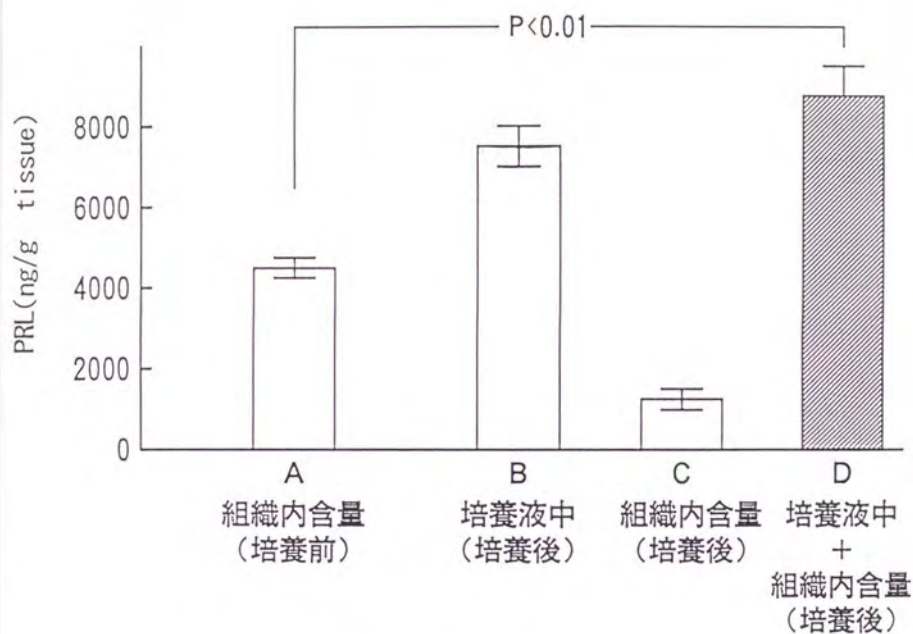


図1 妊娠初期脱落膜における Prolactin 生産量

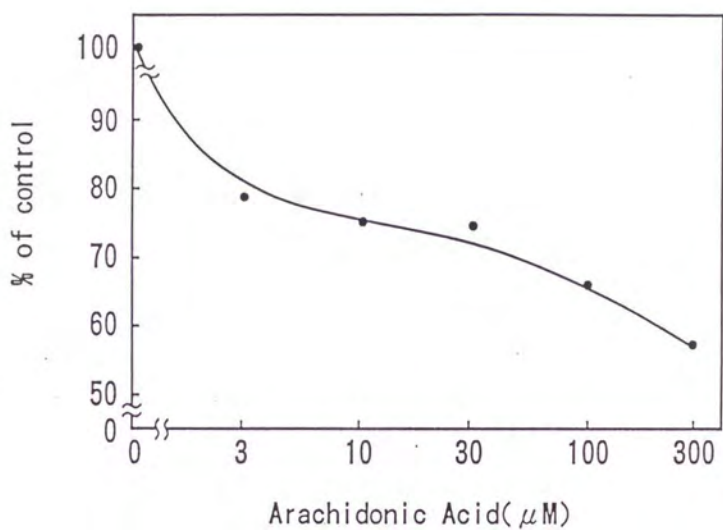


図2 各種濃度のアラキドン酸の脱落膜Prolactin産生に及ぼす効果

表1 純化したアラキドン酸の脱落膜Prolactin産生に及ぼす効果

	PRL産生量 (ng/g.wet.tissue)
対照非添加群	1831.5 ± 537.1
アラキドン酸 (300 μ M)	919.0 ± 226.1 *
純化したアラキドン酸 (300 μ M)	700.3 ± 196.6 *

各々6例の脱落膜組織を用いた。 * P<0.01 vs control

PRL産生量は 919.0 ± 226.1 ng/g.wet.tissueであり、対照非添加群 1831.5 ± 537.1 ng/g.wet.tissueと比較して有意に低値であった ($P < 0.01$)。純化したアラキドン酸 $300 \mu\text{M}$ の添加によっても6時間後のPRL産生量は 700.3 ± 196.6 ng/g.wet.tissueであり、対照非添加群に比べ有意に低値であった ($P < 0.01$)。純化していないアラキドン酸と純化したアラキドン酸のPRL産生量の両者に有意差は認められなかった。以上より、peroxideの混入がアラキドン酸の効果に影響している可能性は否定できた。

2、アラキドン酸の主要な代謝系としてcyclooxygenase系とlipoxygenase系があり、各々PGとleukotrienが産生されている。そこでアラキドン酸の抑制効果がこれらのアラキドン酸の代謝物を介するものであるか否かを検討した。表2のごとく、 PGE_2 、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($3 \mu\text{M}$ 、 30nM) の添加にても6時間後の脱落膜PRLの産生量には変化がみられなかった ($n=6$)。さらに、cyclooxygenaseのinhibitorであるindomethacin ($25 \mu\text{g/ml}$)、やlipoxygenaseのinhibitorであるBW-755C ($4 \mu\text{M}$) の添加も脱落膜PRLの産生 ($n=6$) には影響しなかった (表3)。さらにindomethacinとBW-755Cの存在下でもアラキドン酸は抑制効果を発揮した。従って、アラキドン酸の脱落膜PRLの産生抑制効果はこれらのアラキドン酸の代謝物を介するものではないことが示唆された。

3、アラキドン酸はpoly-unsaturated fatty acidであるが、アラキドン酸の脱落膜PRLの産生抑制効果がunsaturated fatty acidに共通する効果であるかを

表2 PGE₂, PGF_{2α}の脱落膜Prolactin産生に対する効果

	PRL 産生量(ng/g.wet.tissue)
対照群	1375.8 ± 356.8
PGE ₂ (3 μ M)	1417.1 ± 490.2
PGE ₂ (30nM)	1444.6 ± 262.7
PGF _{2α} (3 μ M)	1458.4 ± 400.2
PGF _{2α} (30nM)	1516.2 ± 512.5

各々6例の脱落膜組織を用いた。

表3 cyclooxygenase阻害剤およびlipoxigenase阻害剤の脱落膜Prolactin産生に対する効果

	PRL 産生量(ng/g.wet.tissue)
対照群	3556.7 ± 677.5
indomethacin (25 μ g/ml)	3748.7 ± 779.3
indomethacin (25 μ g/ml) + arachidonic acid (300 μ M)	2222.9 ± 484.0*
BW755-C (4 μ M)	3400.2 ± 604.3
BW755-C (4 μ M) + arachidonic acid (300 μ M)	2048.6 ± 345.8*

各々6例の脱落膜組織を用いた。 * p < 0.05 vs control

検討する目的で、生体内に存在する代表的なunsaturated fatty acidを添加し、incubation (n=6)を行った。poly-unsaturated fatty acidである、 γ -linolenic acid と linoleic acid (いずれも300 μ M) の添加でPRL産生量はそれぞれ 542.3 ± 181.5 ng/g.wet.tissueと 590.2 ± 167.4 ng/g.wet.tissueであり対照群 (1936.2 ± 157.3 ng/g.wet.tissue) に比較し著明に抑制され ($P < 0.01$)、抑制の程度はアラキドン酸添加群 (387.2 ± 132.7 ng/g.wet.tissue) とほぼ同様であった。一方、mono-unsaturated fatty acidである oleic acid と saturated fatty acidである palmitic acid では抑制効果を示さなかった (表4)。以上より、アラキドン酸による脱落膜PRLの産生抑制効果はpoly-unsaturated fatty acidに共通する効果と考えられた。

4、アラキドン酸の作用機序をみる目的でprotein kinase Cとprotein kinase Aのそれぞれの代表的な作動物質であるphorbol 12-myristate 13 acetate (PMA 50ng)とdibutyl-*c*-AMP (100 μ M、1nM) の脱落膜PRL産生に与える影響をみた (n=6)。すると、いずれの添加も脱落膜PRLの産生量には影響しなかった。なお、*c*-AMP 分解酵素 (phosphodiesterase) のinhibitorであるiso-butyl-methyl-xanthine (IBMX) も影響しなかった (表5)。従って、アラキドン酸の作用機構にprotein kinase Cおよびprotein kinase Aの関与は否定的である。

5、妊娠末期の羊水中および脱落膜中のPRL含有量を陣痛の有無別に測定し、羊水中の脂質濃度との関連において検討した。ヒト妊娠末期の羊水

表4 各種脂肪酸添加による脱落膜Prolactin産生の変化

	Prolactin産生量(ng/g.wet.tissue)
対照群	1936.2 ± 157.3
γ -linolenic acid (300 μ M)	542.3 ± 181.5*
linoleic acid (300 μ M)	590.2 ± 167.4*
arachidonic acid(300 μ M)	387.2 ± 132.7*
oleic acid (300 μ M)	2052.4 ± 231.3
palmitic acid (300 μ M)	1781.3 ± 309.1

各々6例の脱落膜組織を用いた。* $p < 0.01$ vs control

表5 phorbol 12-myristate 13 acetate (PMA)、dibutyryl-c-AMP (cAMP)および iso-butyl-methyl-xanthine (IBMX) 添加による脱落膜Prolactin産生に対する効果

	Prolactin産生量(ng/g.wet.tissue)
対照群	3089.5 ± 563.3
PMA (50ng/ml)	2996.8 ± 300.9
cAMP(100 μ M)	3460.2 ± 205.4
cAMP(1nM)	3769.2 ± 275.1
IBMX(0.5mM)	3151.3 ± 281.6

各々6例の脱落膜組織を用いた。

中には陣痛開始前の帝王切開例 (n=10) には $921.3 \pm 339.3 \text{ ng/ml}$ の PRL が存在したが陣痛開始後の経膣分娩例 (n=60) では $315.0 \pm 90.7 \text{ ng/ml}$ と有意に ($P < 0.01$) 減少していた (表6)。なお、両群間に平均妊娠週数の相違はみられなかった。このことより、羊水中の PRL は陣痛開始後に減少することが推定されたので、陣痛開始後の時間経過と羊水中の PRL 値との関連性を観察した。陣痛開始後5時間以上経て経膣分娩となった40例の羊水中の PRL 値は $214.3 \pm 24.7 \text{ ng/ml}$ であり、陣痛開始後5時間未満に経膣分娩となった20例の羊水中の PRL 値 $516.3 \pm 115.3 \text{ ng/ml}$ と比べて有意に ($P < 0.05$) 低かった (表7)。さらに、図3のごとく羊水中の PRL 値は分娩開始の経過にともない有意に減少し、陣痛開始後の所要時間との間には負の相関性を認めた ($r = -0.37$, $p < 0.05$)。

羊水中の PRL は脱落膜組織において産生された PRL に由来する⁽⁴⁾⁽⁵⁾。そこで、陣痛開始前後での脱落膜組織における PRL 含量を測定し、陣痛との関係を検討した。陣痛開始後の経膣分娩例 (n=22) においては陣痛開始後5時間以上経た13例では脱落膜における PRL 含量は $125.3 \pm 23.4 \text{ ng/g.wet.tissue}$ であり、陣痛開始後5時間未満 (n=9) の $310.6 \pm 116.2 \text{ ng/g.wet.tissue}$ に比べ有意に ($p < 0.05$) 低値であった (表8)。陣痛開始後の経膣分娩例 (n=22) から採取した脱落膜における含量は $196.8 \pm 47.2 \text{ ng/g.wet.tissue}$ であったが、陣痛開始前の帝王切開例 (n=10) から採取した脱落膜における PRL 含量 $370.3 \pm 67.7 \text{ ng/g.wet.tissue}$ に比べて有意に ($p < 0.05$) 低値であった (表9)。したがって、陣痛開始後の脱落膜組織では PRL 含量は明らかに減少していた。

6、陣痛開始前の帝王切開例より得た羊水と、陣痛開始後即ち経膣分娩

表6 羊水中のProlactin濃度と分娩様式

分娩様式	P R L 濃度(ng/ml)
陣痛未発来例 帝王切開(n=10)	921.3 ± 339.3 *
陣痛発来例 経膈分娩(N=60)	315.0 ± 90.7**

* P<0.01 vs **

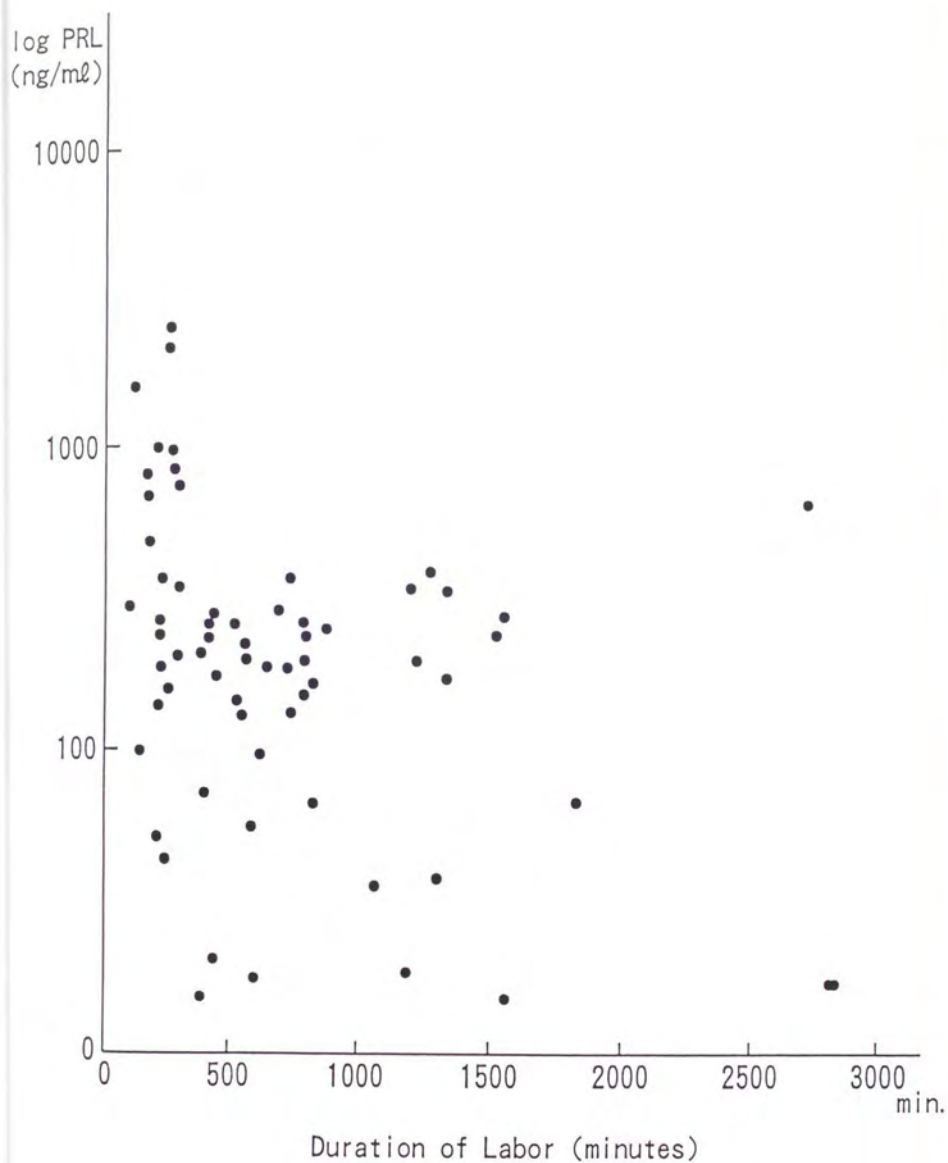


図3 分娩時間と羊水中 Prolactin 濃度との相関

表7 分娩時間と羊水中Prolactin濃度の関係

分娩時間	Prolactin濃度(ng/ml)
5時間以上(n=40)	214.3 ± 24.7*
5時間未満(n=20)	516.3 ± 115.3**

* P<0.05 vs **

表8 分娩時間と脱落膜Prolactin含量の関係

分娩時間	脱落膜Prolactin含量(ng/g.wet.tissue)
5時間以上(n=13)	125.3 ± 23.4*
5時間未満 (n=9)	310.6 ± 116.2 **

* P<0.05 vs **

表9 分娩様式と脱落膜組織中のPRL含量との関係

分娩様式	脱落膜prolactin含量(ng/g.wet tissue)
陣痛発来例 経膣分娩(n=22)	196.8 ± 47.2 *
陣痛未発来例 帝王切開(n=10)	370.3 ± 67.7 **

*p<0.05 vs **

時に得た羊水には各種の脂肪酸が存在した。陣痛開始後の羊水中では陣痛開始前に比べて palmitic acid, palmitoleic acid, oleic acid, linoleic acid, arachidonic acid は、各々 126%, 295%, 283%, 382%, 226% 増加していたが stearic acid は不変であった (表10)。

表10 分娩様式と羊水中各種脂肪酸濃度との関係

分娩様式	palmitic acid	palmitoleic acid	stearic acid	oleic acid	linoleic acid	arachidonic acid
経膣分娩 (n=5)	1.95 ± 0.43	0.79 ± 0.35	0.34 ± 0.04	1.13 ± 0.33	0.42 ± 0.12	0.31 ± 0.06
帝王切開 (n=5)	0.86 ± 0.26	0.20 ± 0.08	0.31 ± 0.03	0.48 ± 0.15	0.11 ± 0.04	0.14 ± 0.04

(μ g/ml, $M \pm SE$)

経膣分娩は陣痛発来例であり、帝王切開は陣痛未発来例である。

考察

ヒトの脱落膜組織がPRLを産生することはRiddickらによる報告以来、疑いのない事実となっている⁽²⁾。下垂体前葉組織からのPRL分泌はdopamineやTRHにより各々抑制ないしは促進的な調節を受けている。しかしながら、脱落膜由来のPRL分泌はこれらには反応せず、その分泌調節機構はautocrine、paracrine機構を中心に行われ、脱落膜より分泌される局所因子などの関与が報告されているが⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾、不明な点が多い。

本研究により、妊娠初期の脱落膜PRL産生はアラキドン酸を初めとするpoly-unsaturated fatty acidにより抑制されることが明らかとなった。なおアラキドン酸の作用は脱落膜組織におけるthymidine uptakeの含有量に影響を与えなかったこと(未発表データ)、およびアラキドン酸を $10^{-4} \sim 10^{-2}$ M濃度でin vitroで添加した場合に子宮筋内のcAMP濃度を用量依存性に上昇させることが報告されており⁽¹⁶⁾、今回用いたアラキドン酸の最大濃度 3×10^{-4} Mは少なくともcytotoxicityは有さないことが推定される。脱落膜組織においてはphospholipase A₂の活性が認められ、しかも非妊時の子宮内膜よりはるかに高い活性を示していると報告されている⁽¹⁷⁾。さらに卵膜からも多量のアラキドン酸が分泌されていることも知られている⁽⁸⁾⁽¹¹⁾。これらの事実と今回の成績を勘案すると、脱落膜由来のPRLは局所において放出されるアラキドン酸によって、その産生分泌が調節されている可能性が考えられる。なお今回は妊娠初期の脱落膜を用いたが、Handwerger等は妊娠末期の脱落膜を用いて $3 \sim 300 \mu$ Mのアラキドン酸のPRL産生抑制効果を報告しており⁽⁷⁾、アラキドン酸の作用は妊娠週数に関わらず認められるものと推定され

る。

現在、PRLには糖鎖の付着したglycosylated PRLが存在することが知られているが、glycosylated PRLの免疫活性は一般のPRLの約30%と低く、生理学的意義も不明である⁽¹⁸⁾。妊娠末期の羊水中PRLはglycosylated PRLが30～40%を占め、脱落膜においてもglycosylated PRLが産生されていることが報告されている⁽¹⁹⁾。しかし、本研究ではimmunoreactiveなPRLとしてglycosylated PRLとnonglycosylated PRLの両者を測定しており、アラキドン酸のPRL分泌に及ぼす影響をPRLの糖鎖の有無によっては検討していない。

脱落膜のPRL産生は indomethacin や PGE_2 や $\text{PGF}_{2\alpha}$ によって影響されなかった。さらに、lipxygenase 系酵素阻害剤である BW755-C の添加によってもアラキドン酸の脱落膜PRL産生抑制効果は影響されなかった。以上より、脱落膜PRL産生抑制機序にlipxygenase, cyclooxygenase系代謝物が関与している可能性は少なく、アラキドン酸それ自体、あるいはこれらの経路以外のアラキドン酸の代謝物が脱落膜PRLの産生に関与しているものと考えられる。

アラキドン酸とホルモン分泌との関係については、すでに脾、下垂体などにおいても報告されている⁽¹⁰⁾⁽²⁰⁾。しかし、いずれも indomethacin や BW755-Cなどのアラキドン酸代謝阻害剤がアラキドン酸のホルモン分泌に影響することから、アラキドン酸自体の作用よりはアラキドン酸代謝物の関与が示唆されている。したがって、脱落膜PRLの産生に対するアラキドン酸の作用機構は他のホルモン分泌におけるそれとは異なっているものと考えられる。また、ある種の組織ではアラキドン酸やPGがcAMP産生を亢

進することが知られている⁽¹⁶⁾。さらに cAMP が脱落膜 PRL の産生を抑制するとの報告もあり⁽²¹⁾、アラキドン酸が cAMP 産生を亢進した可能性も考慮される。しかしながら今回の実験では、dibutyl-*l*-cAMP の添加や cAMP 分解酵素である phosphodiesterase の inhibitor である iso-butyl-methyl-xanthine (IBMX) の添加も脱落膜の PRL 産生に影響しなかったことから、少なくとも脱落膜におけるアラキドン酸の PRL 産生抑制効果は cAMP を介さずに作用しているものと判断される。

最近アラキドン酸が好中球に対して直接 protein kinase C を活性化することが報告され、細胞内のシグナル伝達の second messenger としての役割が注目されている⁽²²⁾。今回 protein kinase C を活性化する phorbol ester の一種である phorbol 12-myristate 13-acetate によっても脱落膜 PRL 産生は影響されなかった。したがって、アラキドン酸による脱落膜 PRL 産生抑制機構においては、protein kinase C の関与は否定的である。それ以外の可能性としてはアラキドン酸や、ある種の脂肪酸は cyclooxygenase や lipoxygenase の代謝物を介さずに直接カリウムのチャンネルを活性化することが知られている⁽²³⁾。この作用が PRL 産生に関与するか否かは、今後の検討が必要な点である。

妊娠末期の卵膜においては、リン脂質からのアラキドン酸の遊離およびアラキドン酸から PG への転換は活発となり、羊水中のアラキドン酸の濃度は陣痛開始後に増加することが知られている⁽²⁴⁾。事実、本研究においても陣痛開始後の羊水中では、アラキドン酸をはじめとして各種脂肪酸の増加が確認された。組織中ではアラキドン酸は大部分がリン脂質中にエステ

ル結合型として存在しており、PG合成の基質として利用されるためには酵素的に分解されて遊離型に転換される必要がある。羊水腔を取り囲んでいる卵膜組織中のアラキドン酸濃度は他の組織に比べて非常に高値であり、陣痛開始後には特異的に減少することから⁽²⁴⁾、羊水中アラキドン酸の供給源は卵膜組織と考えられている。すでに述べたように、羊水中のPRLは脱落膜組織において産生されたPRLに由来する⁽⁴⁾⁽⁵⁾。一方、本研究からは羊水中のPRL値はアラキドン酸濃度とは逆に陣痛開始後においては低下し、しかも分娩時間の経過に逆相関して減少することが明らかになった。さらに陣痛開始後の脱落膜においてもPRL含量は低下していた。これらから、分娩経過にともない卵膜組織からのアラキドン酸の遊離が亢進し、それが脱落膜PRLの産生を抑制した結果、羊水中PRL値が減少するとの推論も可能である。他方、陣痛開始後の卵膜組織には細胞間の分離がみられることから、脱落膜からの羊水腔へのPRLの transport が傷害されたことにより羊水中のPRL濃度が減少することも考慮される。しかしながら、陣痛開始後の脱落膜においてもPRL含量が低下していたことや、絨毛組織より産生される h-PL の羊水中濃度は陣痛開始前後で変化しなかったことから(未発表データ)、羊水中PRL値の減少には細胞間の分離が関与している可能性は少ないものと判断される。

また最近、ヒト羊膜のphospholipase A₂活性は estrone sulfatase により著しく亢進するという報告がされている⁽²⁵⁾。一方、estrone sulfatase活性は陣痛を経過した脱落膜組織では高値を示すことも知られている⁽²⁶⁾。その結果、陣痛例では脱落膜の phospholipase A₂活性が上昇し、アラキドン酸の遊離が

増加することが想定されるが、今回認められた陣痛例での羊水中のアラキドン酸の濃度の上昇は上記の推論と合致する事実である。さらに興味あることにPRLは陣痛発来後の脱落膜組織の estrone sulfatase 活性を抑制することが示されており⁽²⁶⁾、上述の陣痛を経過した例での estrone sulfatase活性の上昇は今回観察されたPRL濃度の低下によるという解釈も可能である。

分娩発来の機序については現在なお明らかではないが、 PGE_2 と $\text{PGF}_{2\alpha}$ が子宮筋収縮に関与することは認められている。PGは卵膜より分泌されているものと考えられているが、近年 Tyson らはPRLが卵膜の PGE_2 産生を抑制することを報告している⁽²⁷⁾。従って今回、陣痛を経験した例では脱落膜組織および羊水中のPRL濃度が低下しているという成績が得られたが、卵膜局所でのPRL濃度の低下がPGの卵膜からの分泌をさらに亢進した可能性も推定される。すなわちPRLの濃度の低下により PG 分泌の抑制が解除され、その結果子宮筋収縮が促進される、言い換えるならばPRL濃度の低下は陣痛の促進因子の一つであるという推論も可能である。

羊水と脱落膜のPRLが生物学的活性を有することはNB2 node lymphoma cell を用いて証明され⁽²⁸⁾、さらに羊水中PRLは羊水の浸透圧や水電解質を調節していると想定されているが⁽²⁹⁾、脱落膜PRLの生理的意義の詳細は不明であった。今回、脱落膜PRL分泌に与えるアラキドン酸の影響が明らかとなり、特に分娩経過に伴い羊水中PRLの低下および脱落膜におけるPRL含量の低下を見いだしたことはこれまでにない新知見であり、今後の脱落膜PRLの生理的意義の解明において新しい視点を与え、意義深いものと考えられる。さらに、妊娠初期の脱落膜における PG 産生は着床機構に関係し

ており、PGの前駆物質であるアラキドン酸の代謝の状態も着床の前後で著しい変化を来すことが知られている⁽³⁰⁾。これにともなって、脱落膜のPRL産生も変化することが想定されるが、脱落膜PRLが着床現象に関与するか否かは今後の重要な研究課題である。

文献

1. Hwang, P., Guyda, C.H. and Friesen, H.G.: A radioimmunoassay for human prolactin (affinity chromatography/galactorrhea/amniotic fluid/menstrual cycle/growth hormone). *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 68: 1902, 1971.
2. Riddick,D.H.,Luciano,A.A.Kusmich,W.F. and Maslar,J.A.: De novo synthesis of prolactin by human decidua. *Life.Sci.*,23:1913,1978.
3. Healy,D.L.:The synthesis of immunoreactive prolactin by decidua-chorion. *Brit.J.Obstet.Gynecol.*,86:307,1979.
4. Riddick, S.M. and Kusmik, W.K.: Decidua : A possible source of amniotic fluid prolactin. *Am.J.Obstet.Gynecol.*,127 : 187, 1977.
5. Riddick, S.M. and Maslar, I.A. : The transport of prolactin by human fetal membrane. *J.Clin.Endocrinol.Metab.*, 52 :220, 1981.
6. Markoff,E.,Zeiter,p.,Pleg,S. and Handwerger,S.:Characterisation of an enriched cells.*J.clin.Endocrinol.Metab.*,56:962,1983.
7. Handwerger,S.,Barry,S.,Barret,J.,Markoff,E.,Zeiter,P.,Cwikel B. and Sieger, M.:Inhibition of the synthesis and secretion of decidual prolactin by arachidonic acid.*Endocrinol.*,109:2016,1981.
8. Okita,J.R.,Johnson,J.M. and MacDonald,P.G.:Source of prostaglandin precursor in human fetal membranes:arachidonic acid content of amnion and chorion leave in diamnitic-dichorionic twin placentas.*Am.J.Obstet.Gynecol.*, 147:477,1983.
9. Berridge,M.J.:Inositol and diacylglycerol as second messengers.*Biochem.J.*, 220:345,1984.
10. Otteczwk,A.,Samson,W.K. and Mccann,S.M.:A possible role prostacyclin to

stimulate prolactin and growth hormone release by hypothalamic and pituitary actions, respectively. *Endocrinol.*, 114:359, 1984.

11. Keirse, M.J.N.C., Hicks, B.R., Mitchell, M.D. and Turnbull, A.C.: Increase of the prostaglandin precursor, arachidonic acid, in amniotic fluid during spontaneous labor., *Brit. J. Obstet. Gynecol.*, 84:937, 1977.
12. Willson, R.L.: Hydroxyl radicals and Biological damage in vitro? Oxygen Free Radical and Tissue Damage. *Ciba Found. Symp.*, 19. Excerpta Medica, New York. 1979.
13. Kennedy, T.G.: Evidence for a role for prostaglandins in the initiation of blastocyst implantation in the rat., *Biol. Reprod.*, 16:286, 1977.
14. Handwerger, S. Markoff, E. and Randall, R. : Regulation of the synthesis and release of decidual prolactin by placental and autocrine/paracrine factors. *Placenta* 12: 121, 1991
15. Handwerger, S. Harman, I. Golander, A. and Handwerger, D.A.: Prolactin release from perfused human decidua explants; effects of decidual prolactin-releasing factor (PRL-RF) and prolactin release-inhibitory factor (PRL-IF). *Placenta* 13: 55, 1992
16. Vesin, M.F. Khag, L.D. and Harbon, S. : Modulation of intracellular adenosine Cyclic 3', 5'-monophosphate and contractility of rat uterus by prostaglandin and polyunsaturated fatty acids. *Molecular pharmacology* 14: 24, 1978
17. Goldberg, V.J. and Ramwell, P.W.: Role of prostaglandins in reproduction. *Physiol. Rev.*, 55:325, 1975.
18. Lewis UJ, Singh RNP, Sinha YN, and Varendar Laan WP.: Glycosylated human prolactin. *Endocrinology*. 116:359, 1985.

19. Lee D.W. and Markoff E.: Synthesis and release of glycosylated prolactin by human decidua in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 62:990,1986.
20. Metz,S.,von Rollins,M.,Fujimoto,W. and Robertson,R.P.:Lipoxygenase pathway in islet endocrine cells oxidative metabolism of arachidonic acid promote insulin release. *J.Clin.Invest.*,71:1191,1983.
- 21.Handwerger, S., Harman, I., Costello, A. and Markoff,E.:Cyclic AMP inhibits the synthesis and release of prolactin from human decidual cells. *Molecular and Cellular Endocrinology* 50:99,1987.
- 22.Mcphail,L.C.,Christine,C. and Synderman, C.R.:A potential second messenger role for unsaturated fatty acid:Activation of Ca-dependent protein kinase. *Science*,244:622,1984.
23. Ordway,R.W.,Walsh,J.V.Jr. and Singer,J.J.:Arachidonic acid and other fatty acids directly activate potassium channels in smooth muscle cells.,*Science*,244: 1176,1989.
- 24.Okazaki,T.,Casey,M,L.,Okita,J.R.,MacDonald,P,C., and Johnston,J.M.:Initiation of human parturition,;Biosynthesis and metabolism of prostaglandins in human fetal membranes and uterine decidua.,*Am.J.Obstet.Gynecol.*139:373 1981.
25. Saitoh H,Hirato K,Tahara R,Ogawa K,Noguchi Y,Yanaihara T, and Nakayama T.:Enhancement of human amniotic phospholipase A2 activity by steroid sulphate derived from the feto-placental unit.,*Acta Endocrinol (Copenh)* 107: 420,1984.
26. Braverman,M.B., and Gurdipe,E.,:Invitro effect of human prolactin and oxytocin on sulfatase activity in isolated human decidual cells., *J.Clin.Endocrinol.Metab.*,63:725,1986.

27. Tyson, J.E., McCoshen, J.A., and Dubin, N.H.: Inhibition of fetal membrane prostaglandin by prolactin: Relative importance in the initiation of labor., *Am.J.Obstet.Gynecol.*, 151:1032, 1985.
28. K.Tomita, McCoshen J.A., Friesen H.G., and Tyson J.E.: Quantitative comparison between biological and immunological activities of prolactin derived from human fetal and maternal sources. *J Clin Endocrinol Metab* 55:269, 1982.
29. Leontic, E.A., Schrufer, J.J., Andreassen, B., Pinto, H. and Tyson, J.E.: Further evidence for the role on human fetoplacental osmoregulation. *Am.J.Obstet.*, 133:435, 1979.
30. 石原 理、木下 勝之、堤 治、佐藤 和雄、水野 正彦: 受精卵着床時の家兎子宮内膜におけるアラキドン酸代謝の変化について. *日不妊会誌* 31:75, 1986.

